

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Bioteekniikka

2014

Lea Laaksonen

ITÄMEREN MAKEUTUMISEN VAIKUTUS SILAKAN JA SILAKAN RAVINNON RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bio- ja elintarviketekniikka | Biotekniikka

Kevät 2014 | 42 sivua

Ohjaajat:

Kai Rosenberg, FK, Turun Ammattikorkeakoulu; Jukka-Pekka Suomela, Dos., FT, Turun Yliopisto

Lea Laaksonen

ITÄMEREN MAKEUTUMISEN VAIKUTUS SILAKAN JA SILAKAN RAVINNON RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEEN

Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia Itämeren silakan ja silakan ravinnon eli planktonin kokonaisrasvahappokoostumusta sekä Itämeren makeutumisen vaikutusta rasvahappokoostumukseen. Aiemmissa tutkimuksissa on havaittu, että silakan ja sen ravinnon rasvahappokoostumukset vastaavat tietyiltä osilta toisiaan ja että ravinnon merkitys yksilön rasvahappokoostumukseen on merkittävä. Opinnäytetyö tehtiin Turun yliopiston Biokemian laitoksella osana Turun yliopiston Saaristomeren tutkimuslaitoksen projektia.

Rasvahappokoostumusta tutkittiin uuttamalla rasvat näytteistä irti, muuttamalla haihtumattomat rasvahapot niiden metyyliestereiksi ja analysoimalla nämä kaasukromatografilla. Tutkimuksessa käytettiin 15 silakkaa, 5 silakan mätiä, 4 planktonnäytettä ja 4 *Limnocalanus*-hankajalkaisnäytettä.

Saadut tulokset tukevat käsitystä, että ravinnon sisällöllä on huomattavaa merkitystä rasvahappokoostumukseen. Kunkin näytetypin tulokset vastasivat hyvin erilaisten lähteiden antamaa yleiskuvaa rasvahappokoostumuksista: planktonnäytteen rasvahappokoostumukseen kuuluu huomattavasti suppeampi määrä erilaisia rasvahappoja kuin *Limnocalanus*-hankajalkaisten rasvahappokoostumukseen ja silakan rasvahappokoostumus vastaa yleistä merellisten öljyjen rasvahappokoostumusta. Itämeren makeutumista ajatellen tuloksissa havaittiin myös eroja, kun vertailua tehtiin vuoden 1976 silakoiden ja planktonnäytteiden tuloksiin. Molempien näytetyyppien rasvahappokoostumus näytti muuttuneen. Etenkin silakan muutos vaikuttaa ravitsemuksellisesti positiiviselta, koska pitkien, monitydyttymättömien rasvahappojen osuus näyttäisi kasvaneen ja lyhyiden, tyydyttyneiden rasvahappojen osuus pienentyneen. Muutoksella saattaa kuitenkin olla merkittävää vaikutusta silakan biokemiaan, jolloin ravitsemuksellinen hyöty voi olla kyseenalaista.

ASIASANAT:

Itämeri, Selkämeri, silakka, plankton, *Limnocalanus*, rasvahappo

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biotechnology and Food Technology | Biotechnology

Spring 2014 | 42 pages

Instructors:

Kai Rosenberg, M.Sc., Turku University of Applied Sciences; Jukka-Pekka Suomela, Ph.D., University of Turku

Lea Laaksonen

EFFECTS OF DECREASING SALINITY IN THE BALTIC SEA ON FATTY ACID COMPOSITION OF BALTIC HERRING AND ITS PLANKTON FEED

The goal of this Bachelor's thesis was to study the total fatty acid composition of both Baltic herring and the plankton it feeds on and the effects of decreasing salinity in the Baltic Sea on the fatty acid composition. Previous studies have shown that the fatty acid compositions of Baltic herring and plankton feed partially correspond to each other and that nutrition has a significant effect on fatty acid composition. The Bachelor's thesis was made for the Department of Biochemistry in the University of Turku as part of a project by the Archipelago Research Institute in the University of Turku.

The fatty acid composition was studied by extracting fatty acids from the samples, transforming the nonvolatile ones to their respective methyl esters and analyzing these using gas chromatography. Samples were taken from 15 Baltic herrings, 5 units of herring roe, 4 units of phytoplankton, and 4 units of *Limnocalanus* copepods.

The results support the conception that nutrition is a significant factor in fatty acid composition. Each sample type gave results that were in line with the general pattern found in fatty acid compositions. The plankton samples contained significantly fewer fatty acids than *Limnocalani*, and Baltic herring had a similar fatty acid composition to marine oils. Comparing the new results to results from 1976, differences were found which were caused by the decreased salinity in the Baltic Sea. The fatty acid composition of both Baltic herring and plankton samples seemed to have changed. The changes in herring seem nutritionally positive, as the portion of long unsaturated fatty acids had increased in relation to shorter saturated ones. This change might, however, have a significant effect on the biochemistry of Baltic herrings, which would mean that the nutritional benefit could be questionable.

KEYWORDS:

Baltic Sea, Bothnian Sea, Baltic herring, plankton, *Limnocalanus*, fatty acid

SISÄLTÖ

KÄYTETYT LYHENTEET (TAI SANASTO)	6
1 JOHDANTO	7
2 TUTKIMUS ILMASTOMUUTOKSEN VAIKUTUKSISTA ITÄMEREEN	8
2.1 Saaristomeren tutkimuslaitos	9
2.2 Turun yliopiston Biokemian laitos	9
3 TEORIA	10
3.1 Itämeri	10
3.2 Silakka ja plankton silakan ravintona	12
3.3 Itämeren kalalajien rasvahappoja	14
3.4 Yleinen katsaus ravintoketjuihin ja planktonien rasvahappoihin	17
4 RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEN MÄÄRITYS	19
4.1 Näytteet	19
4.2 Homogenointi ja liuotinuutto	20
4.2.1 Silakka ja mäti	21
4.2.2 Planktonnäytteet ja <i>Limnocalanus</i> -näytteet	22
4.3 Metylointi	23
4.4 Kaasukromatografia	24
5 TULOKSET	25
5.1 Kromatografia	25
5.2 Rasvahappokoostumus	25
6 TULOSTEN TULKINTAA JA VERTAILUA	29
7 JOHTOPÄÄTÖKSET	36
LÄHTEET	37

LIITTEET

- Liite 1. 68D:n rasvahappokoostumus.
Liite 2. Kuvio 2 sekä kuvion kuvaajien lukuarvot.
Liite 3. Kuviot 3–6 sekä kuvioiden kuvaajien lukuarvot.
Liite 4. Kuvio 7 sekä kuvion kuvaajien lukuarvot.

KUVAT

Kuva 1 Itämeri rajattuna tummemman sinisellä.	11
Kuva 2 Silakka.	12
Kuva 3 Erilaisia planktonlajeja.	13
Kuva 4 <i>Limnocalanus macrurus</i> .	13

KUVIOT

Kuvio 1 Itämeren suolapitoisuuden vaihtelu. ⁷	10
Kuvio 2 EPA:n ja DHA:n osuudet kokonaisrasvahapoista mädissä ja kalassa.	31
Kuvio 3 Rasvahapon 14:0 prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.	32
Kuvio 4 Rasvahapon 16:0 prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.	33
Kuvio 5 EPA:n prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.	33
Kuvio 6 DHA:n prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.	34
Kuvio 7 EPA:n ja DHA:n suhteelliset osuudet planktonin ja silakan kokonaisrasvahapoista.	35

TAULUKOT

Taulukko 1 Toteutunut näytteenotto.	19
Taulukko 2 Kaasukromatografian lämpötilaohjelma.	24
Taulukko 3 <i>Limnocalanus</i> -näytteiden rasvahappokoostumukset.	26
Taulukko 4 Planktonnäytteiden rasvahappokoostumukset.	27
Taulukko 5 Silakoiden ja mätinäytteiden rasvahappokoostumukset.	28
Taulukko 6 Planktonnäytteiden rasvaluokkien prosenttiosuudet.	29
Taulukko 7 <i>Limnocalanus</i> -näytteiden rasvahappoluokkien prosenttiosuudet.	30

KÄYTETYT LYHENTEET (TAI SANASTO)

EPA	Eikosapentaeenihappo 20:5(n-3)
DHA	Dokosaheksaeenihappo 22:6(n-3)
<i>cis</i>	kaksoissidoksen konfiguraatio, jossa kaksoissidoksen muodostamiin hiiliin on kiinnittyneenä jokin muu atomi tai atomiryhmä kuin vety ja nämä atomit/atomiryhmät sijaitsevat kaksoissidoksen samalla puolella
14:0	myristiinihappo
16:0	palmitiinihappo
16:1(n-7)	palmitoleiinihappo
18:1(n-9)	öljyhappo
20:1(n-9)	eikoseenihappo
22:1(n-9)	erukahappo

1 JOHDANTO

Ilmasto muuttuu jatkuvasti sekä luonnostaan että ihmisen toiminnan takia. Nykyään ilmastonmuutoksella tarkoitetaan ihmisen toiminnasta johtuvan kasvihuonepäästöjen (lähinnä hiilidioksidin) kasvun aiheuttamaa kasvihuoneilmiön voimistumista. Kasvihuoneilmiö vaikuttaa maapallon lämpötilaan ja vesitasapainoon. Ilmastonmuutos vaikuttaa maailmanlaajuisesti, joten vaikutukset ovat nähtävissä myös Suomessa ja etenkin Itämeren ekosysteemeissä. Sadannan lisääntymisestä johtuva suolapitoisuuden aleneminen on ollut ilmastomuutoksen näkyvin seuraus Itämeressä.

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää, aiheuttaako Itämeren makeutuminen merkittäviä biokemiallisia muutoksia ravintoketjussa kasviplankton-eläinplankton-silakka. Työ suoritettiin Turun yliopiston biokemian laitoksella elintarvikekehityksen osastolla, jossa on tarvittavat analysointilaitteet työtä varten. Myös vertailunäytteitä tuloksineen oli saatavilla tilanteesta, jossa meren suolapitoisuus oli nykyistä korkeampi, koska Turun yliopiston Saaristomeren tutkimuslaitoksella sekä biokemian laitoksella on tehty vastaavia tutkimuksia jo 1970-luvulla. Työ on osa Turun yliopiston Saaristomeren tutkimuslaitoksen projektia, jonka päätarkoitus on laatia ennusteita siitä, millainen Itämeri tulee olemaan, mikäli sadanta jatkuu nykyisellään tai lisääntyy.

Työskentely aloitettiin tekemällä analysointisuunnitelma toteutuneen näytteenoton perusteella. Näytemateriaaleina oli silakoiden lihasnäytteitä, silakoiden mätinäytteitä, planktonnäytteitä sekä *Limnocalanus*-hankajalkaisia. Näytteistä irrotettiin rasvahapot liotinuuton sekä mekaanisen homogenoinnin avulla. Uutetut rasvahapot muutettiin haihtuviksi rasvahappojen metyyliestereiksi, jotka analysoitiin kaasukromatografilla. Saatuja tuloksia verrattiin aikaisempiin tutkimustuloksiin, jotta Itämeren makeutumisen merkitys saatiin selville.

2 TUTKIMUS ILMASTOMUUTOKSEN VAIKUTUKSISTA ITÄMEREEN

Turun yliopiston Saaristomeren tutkimuslaitos tekee tutkimusta ilmastonmuutoksen vaikutuksista Itämereen. Ilmastonmuutosta ja meriekosysteemin toimintaa sääteleviä tekijöitä on tutkittu jo vuosien ajan ja näin saadut pitkän aikavälin havainnot ovat mahdollistaneet sekä muutosten vertailun että johtopäätösten teon.

Itämeren tilaa säätelevistä tekijöistä tärkein on sadanta, joka makean veden valuman kautta vaikuttaa meriveden suolapitoisuuteen ja ravinteiden huuhtoutumiseen maalta. Sadannan lisääntymisestä johtuva suolapitoisuuden aleneminen on ollut ilmastonmuutoksen näkyvin seuraus Itämeressä. Suolapitoisuuden laskun suoranaisia seurauksia ovat mm. kampelan ja turskan häviäminen rannikoiltamme, rehevöitymisen kasvu ja sen seurausilmiöinä merenpohjan happikadot ja sinilevien massakukinnat.¹

Ekologisten muutosten ohella tarkastelua syvennetään koskemaan myös ekosysteemissä tapahtuvia biokemiallisia muutoksia, esimerkkinä ravintoketju kasviplanktonista ja eläinplanktonista silakkaan. Tutkimus pyrkii yhdistämään Itämeren ekosysteemin toiminnan selittämiseen myös ihmisen osuuden sekä muutosten seuraukset ihmisen kannalta.¹

Tutkimuksen keskeisenä alueena toimii Selkämeri, joka muistuttaa lähitulevaisuuden Itämerä tehtyjen ennusteiden mukaan. Suolapitoisuutta 5–7 ‰ edustava alue on jo nyt laajentunut siten, että se kattaa pintavedet Selkämeren pohjoisosasta Gotlannin tienoille asti ja alue tulee laajenemaan eteläiselle Itämerelle asti, mikäli sateisuus lievästikin kasvaa.¹

Selkämeren alueelta kerättiin vuonna 2013 silakoita sekä planktonnäytteitä noin kerran kuukaudessa niin, että erilaisia näytetyyppejä saatiin lähes samanaikaisesti toisiaan vastaavissa olosuhteissa. Näytteitä otettiin silakan koko syönnöskaudelta eli toukokuusta syksyyn, koska silakan ravinto Selkämerellä on huonosti tunnettu.¹

Otetuista näytteistä määritettiin silakoiden sukupuoli, ravinto ja koko sekä planktonnäytteistä lajisto. Silakoista sekä niiden ravinnosta tutkittiin myös rasvojen laatu ja rasvahappokoostumus, koska meren makeutuminen saattaa aiheuttaa muutoksia myös kalan biokemiallisissa ominaisuuksissa. Ravintotutkimukset, lajistomääritykset sekä ominaisuuksien kartoitus tehtiin Turun yliopiston Saaristomeren tutkimuslaitoksessa ja rasvatutkimukset Biokemian laitoksella.¹

2.1 Saaristomeren tutkimuslaitos

Turun yliopiston ympäristöntutkimuskeskus TYYK on erillislaitos, joka hallinnoi yliopiston kenttäasemia tukien ja edistään monitieteistä ja -alaista ympäristötieteellistä opetusta ja tutkimusta. TYYK:n muodostavat Lapin tutkimuskeskus Kevo, aerobiologian yksikkö ja Saaristomeren tutkimuslaitos STL. STL keskittyy Saaristomeren ja Itämeren alueen monitieteelliseen tutkimukseen asettaen keskiöön meriympäristön tilan pitkäaikaisseurannan.²

2.2 Turun yliopiston Biokemian laitos

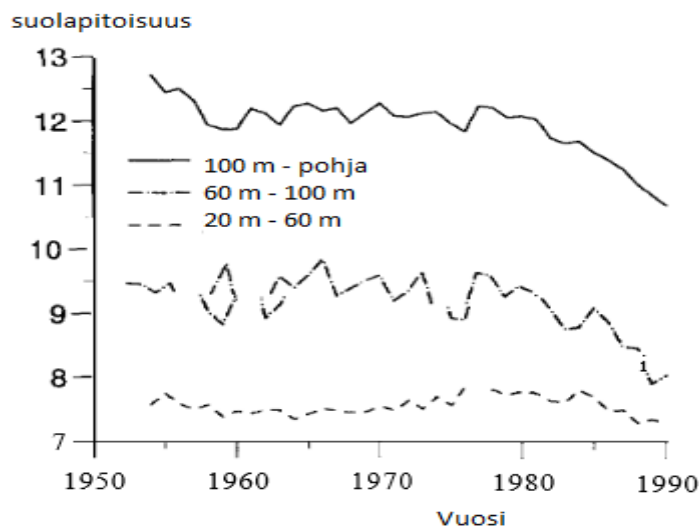
Turun yliopiston Biokemian laitos on matemaattis-luonnontieteellisen tiedekunnan itsenäinen hallinnollinen opetus- ja tutkimusyksikkö, jossa työskentelee kymmeniä tutkijoita ja perus- tai jatkotutkintoa suorittaa runsas 300 opiskelijaa. Laitoksen tilat jakautuvat Arcanumiin, BioCityyn ja Pharmacityyn muodostaen neljä erillistä osastoa: 1) biokemia, 2) elintarvikekemian ja elintarvikekehityksen, 3) biotekniikka sekä 4) molekulaarinen kasvibiologia.³

3 TEORIA

3.1 Itämeri

Itämeriä kutsutaan matalaksi sisämereksi, koska sen keskisyyvyys on vain 55 metriä ja se on lähes kokonaan mantereiden sulkema.⁴ Ainoat yhteydet valtameriin ovat Tanskan kapeat salmet, joista suolaista ja hapekasta vettä pääsee Itämereen heikkona jatkuvana virtauksena sekä ajoittaisina suolapulsseina. Itämeren vesi on sekoitus valtameren suolaista vettä ja lukuisten jokien tuomaa makeaa vettä, eli Itämeri on murtovesiallas, jonka vesi on suolapitoisuudeltaan kerrostunutta.

Itämeren keskimääräinen suolapitoisuus on alle 10 promillea ja paikalliset vaihtelut ovat suuria.⁵ Vuodesta 1950 Itämeren keskimääräinen suolapitoisuus on laskenut yli 20 %.⁶ Itämeren suolapitoisuuden uskotaan entisestään laskevan nykyisen tai nykyistä suuremman sadannan vuoksi koko Itämeren alueella. Kuviossa 1 havainnollistetaan Itämeren suolapitoisuuden vaihtelua kolmessa eri syvyydessä Itämerellä keskimäärin.⁷



Kuvio 1 Itämeren suolapitoisuuden vaihtelu.⁷

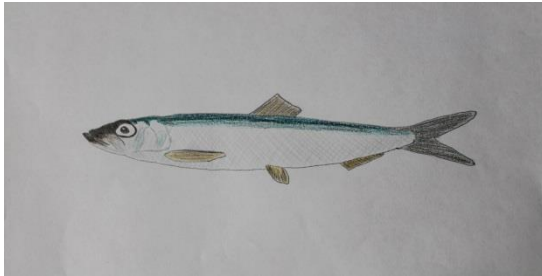
Eliölajistoltaan Itämeri on vähälajinen meri, jossa elää kylmiin olosuhteisiin sopeutuneita suolaisen ja makean veden lajeja. Olosuhteet ovat monille lajeille liian vaativat, joten Itämerestä puuttuu kokonaisia eliöryhmiä.

Itämeren alue on merkitty kuvaan 1. Matalana, pienenä ja lähes kokonaan suljettuna merenä Itämeri on erittäin altis ja herkkä kaikenlaisille muutoksille, ja tapahtuvilla muutoksilla on selkeät, jopa valtavat vaikutukset Itämereen. Muun muassa ilmastonmuutos on muuttanut Itämerta ja tulee todennäköisesti edelleen muuttamaan. Koko ravintoverkoston rakenteeseen tulevat vaikuttamaan niin veden suolapitoisuuden lasku kuin lämpötilan nousu. Sadannan lisääntymisestä johtuva Itämeren makeutuminen voi laskea suolapitoisuuden niin matalaksi, että merikalojen (kuten silakan ja turskan) kannat taantuvat.⁸



Kuva 1 Itämeri rajattuna tummemman sinisellä.

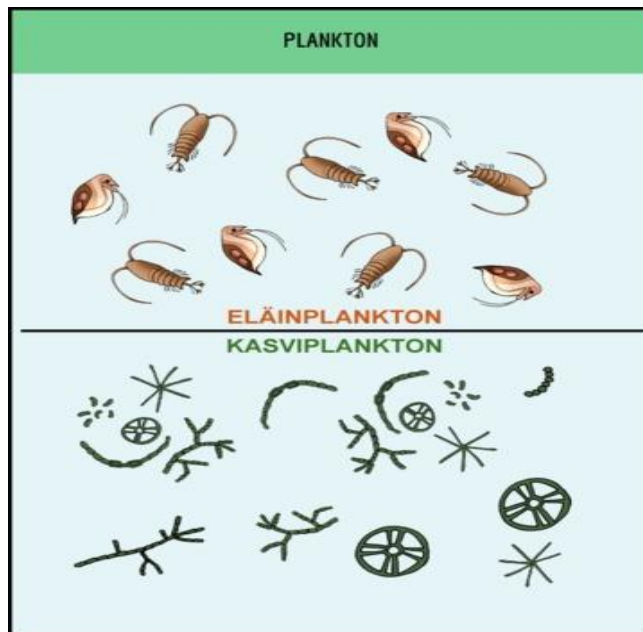
3.2 Silakka ja plankton silakan ravintona



Kuva 2 Silakka.

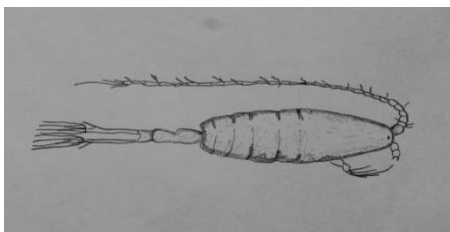
Silakka (*Clupea harengus membras*) on sillin alalaji, joka on onnistunut sopeutumaan murtoveden olosuhteisiin. Kuvassa 2 on esitetty silakkayksilö, jonka väriytyy on pääasiassa harmaa. Silakkaa tavataan suurinpiirtein koko Itämeren alueella ja se kutee lähes kaikilla rannikkoalueilla.⁹ Sen ravintoarvot ovat yleisesti ottaen erinomaiset ja käyttömahdollisuudet monipuoliset. Silliin nähden vähärasvaisempi silakka luokitellaan rasvaiseksi kalaksi, jonka rasvapitoisuus vaihtelee vuodenajasta ja ravintotilanteesta riippuen.

Silakan ravinto on monipuolista ja riippuu pitkälti sekä kalan iästä että saatavilla olevasta ravinnosta. Pedolle tyypillisesti sen ravinto koostuu hankajalkaisista, vesikirpuista, katkoista, hankoisjalkaisäyriäisistä, kaloista sekä mädistä. Vaikka ravintolähteitä on useita, eläinplankton on silakan tärkeintä ravintoa kaikkina vuodenaikoina. Ravinnon valintaan vaikuttaa myös kalan ikä ja ajankohta kutemiseen nähden. Kuteva naarassilakka ei syö juuri mitään, mutta ennen kutemista se varastoi ravinnostaan saatuja rasvahappoja sekä muokkaa niitä erilaisin biokemiallisin reaktiotein ja kutemisen jälkeen se pyrkii intensiivisesti palauttamaan normaalin ravintotason.¹⁰



Kuva 3 Erilaisia planktonlajeja.¹¹

Pohjoisen Itämeren tärkeimmät eläinplanktonin alaluokat ovat vesikirput sekä hankajalkaiset, joita nähdään kuvassa 3. Hankajalkaisiin kuuluva hankajalkaisten laho on silakalle ominaista ravintoa, joten tässä tutkimuksessa eläinplanktonnäytteiksi valittiin *Limnocalanus macrurus* -hankajalkaisia. Ne viihtyvät parhaiten vähäsuolaisessa ja viileässä vedessä ja niiden tiedetään olevan silakan pääravintoa etenkin alkukesästä. Hankajalkaisten ruumis on sukkulamainen ja ruumiista voidaan erottaa eturuumis sekä pyrstöosa. Kuvassa 4 on esitetty *Limnocalanus macrurus* -hankajalkaisen ruumis. Useiden hankajalkaisten tapaan *Limnocalanus* on kaikkiruokainen syöden niin planktonleviä kuin mikroeläinplanktonia. Se laiduntaa merivedestä levien lisäksi hajoavaa, elollista ainesta ja pedon tavoin saalistaa itseään pienempiä eläimiä.¹²



Kuva 4 *Limnocalanus macrurus*.

Itämerellä tavattava *Limnocalanus* on tutkitusti keskimäärin suurempikokoinen kuin Pohjois-Amerikassa, esimerkiksi Michiganjärvellä, tavattava lajikumppaninsa. Michiganjärven yksilöissä vahaesterit muodostavat enemmistön yksilön rasvahapoista, mutta Itämeressä elävien *Limnocalanus*-hankajalkaisten lipidiluokkakoostumusta ei tunneta. Yhteistä kaikille *Limnocalanus*-yksilöille on niiden ruumiissa olevat useat öljypussit, joihin rasvahapot varastoidaan.¹³

Silakan ravinnosta kasviplanktonin osuus on erittäin pieni. Sen sijaan kasviplankton on oleellinen osa useiden planktisten eläinlajien ravintoa.

3.3 Itämeren kalalajien rasvahappoja

On tärkeää erottaa käsitteinä toisistaan rasvahappo ja lipidi. Lipidi on yleiskäsite, jonka alle muun muassa rasvahapot ja niitä sisältävät yhdisteet käsitteellisesti kuuluvat. Rasvahapot määritellään yhdisteiksi, jotka ovat suoraketjuisia, luonnossa yleensä parillisen hiiliatomimäärän ja yhden karboksyyliyhdyntymän (-COOH) sisältäviä happoja. Jos rakenteessa esiintyy kaksoissidos tai kaksoissidoksia, on sen tai niiden konfiguraatio yleensä *cis*.¹⁴

Rasvahapot voivat olla tyydyttyneitä, kertatyydyttymättömiä tai monityydyttymättömiä. Tyydyttyneissä rasvahapoissa ei ole kaksoissidoksia. Monityydyttymättömiin rasvahappoihin kuuluvat omega-rasvahapot, joista voidaan erottaa erilaisia rasvahappoja niiden ensimmäisen kaksoissidoksen paikan perusteella. Rasvahappojen rakenteet esitetään usein numeromuodossa, jossa ensimmäinen numero kertoo hiiliatomien lukumäärän, toinen kaksoissidosten määrän ja sulkeissa oleva numero-kirjainyhdistelmä kertoo, kuinka monennesta hiiliatomista rasvahapon metyyliipäästä laskettuna ensimmäinen kaksoissidos alkaa. Esimerkkinä edellä selitetystä DHA eli 20:5(n-3), jonka hiiliketjussa on 20 hiiliatomia, 5 kaksoissidosta ja ensimmäinen kaksoissidos on kolmannessa hiilessä metyyliipäästä laskettuna. Merkinnän (n-) sijaan voidaan myös käyttää kreikkalaista pientä omega-kirjainta (ω). Omega-rasvahapoista tunnetuimpia ovat omega-3- ja omega-6-rasvahapot.

Ihmisen elimistö ei kykene muodostamaan omega-3-rasvahappojen n-3 -kaksoissidosta eikä omega-6-rasvahappojen n-6 -kaksoissidosta. Kuitenkin useiden näiden rasvahappojen ominaisuudet tekevät niistä ihmiselle välttämättömiä, joten ne on saatava ravinnosta. Tutkitusti kalat ovat hyvä välttämättömien omega-rasvahappojen lähde.

Itämeren kalalajistosta tärkeimpiä ja rasvahapoiltaan tutkituimpia ovat silakka (*Clupea harengus membras*), kilohaili (*Sprattus sprattus*), särki (*Rutilus rutilus*), ahven (*Perca fluviatilis*), made (*Lota lota*) ja kirjolohi (*Oncorhynchus mykiss*).^{15,16} Kaloista on tutkittu erikseen esim. lihaksen ja mädin rasvahappokoostumuksia.

Kalojen mätien tutkimuksessa on vertailtu yleensä silakan, särjen, ahvenen, mateen ja kirjolohen rasvahappokoostumuksia. Yleisesti ottaen näiden lajien rasvahappokoostumukset ovat hyvin samankaltaisia ja lajista riippumatta samat rasvahapot vallitsevat. Tutkimusten perusteella rasvahappokoostumusten erot eivät johdu erilaisista kalalahkoista vaan yksittäisten lajien eroista.^{17,18}

Rasvahappoluokista monityydyttymättömillä on selkeästi suurin osuus (keskimäärin yli 60 %) kaikista rasvahapoista mädissä. Näistä monityydyttymättömistä yleensä EPA:a ja DHA:ta on suhteessa eniten. Lajien välisistä eroavaisuuksista selkeimmät kohdistuvat tyydyttyneisiin ja kertatyydyttymättömiin 16- ja 18-hiiliatomisiin rasvahappoihin. Silakan mädissä palmitiinihapon osuus on suhteellisen suuri verrattuna muihin lajeihin, kun taas silakan palmitoleiinihapon määrä on alhainen etenkin särkeen verrattuna.¹⁷

Mätien rasvahapoista voidaan yleisesti todeta, että ahvenen ja mateen rasvahapot ovat pidempiketjuisia ja omaavat useampia kaksoissidoksia kuin muiden lajien rasvahapot. Silakan rasvahapoissa on yleisesti enemmän kaksoissidoksia kuin kilohailin rasvahapoissa. Kaksoissidosten eroavaisuudet juontuvat todennäköisesti erilaisista ravinnoista.¹⁷ Vaikka sillikalojen lahkoon kuuluvien sillien heimon kalat (kuten silakka) ovat rasvaisia kaloja, on niiden mädin rasvahappopitoisuus suhteellisen alhainen.¹⁸

Kalojen lihasten rasvahappokoostumusta on tutkittu yleisesti Itämeren kilohailista ja silakasta. Ne ovat keskenään hyvin samankaltaisia kalalajeja, eikä rasvahappokoostumuksissakaan ole merkittäviä eroja. Yksittäisten yksilöiden väliset erot johtuvat useista tekijöistä, kuten pyyntiajankohdasta, pyyntipaikasta, kalan sukupuolesta, kalan koosta ja ravinnosta. Molempien lajien vallitseva tyydyttynyt rasvahappo on palmitiinihappo, kertatyydyttymätön oleiinihappo ja monitydyttymätön DHA.^{19,20}

Kokonaisuudessaan silakan lihaksen rasvahappokoostumus vastaa merellisten öljyjen yleistä rasvahappokoostumusta. Kuitenkin silakan rasvahappokoostumuksessa esiintyy sekä vuosien että vuodenaikojen välistä vaihtelua. Vaihtelua selittävät ympäristön muutokset ja ravinnon vaihtelu, mutta myös rasvahappometabolia.²¹ Tutkimukset viittaavat siihen, että silakan rasvahappometabolia ei ole tasaista. Esimerkiksi naarassilakat varastoivat rasvoja ennen kutemista, jonka aikana rasvoin varastoitu energia käytetään nopeasti.²⁰

Ravinnosta saatavat rasvahapot toimivat silakan rasvahappojen metabolian lähtöaineina, joten ravinnon rasvahapoilla on selkeä vaikutus yksittäisten silakoiden rasvahappokoostumukseen. Esimerkiksi Itämeren silakoissa on hyvin vähän rasvahappoja 20:1 ja 22:1 etenkin verrattuna Tyynen valtameren silliin. Näiden kalojen ravintonaan käyttämässä planktonissa on merien välisiä suuria lajistoeroja, jotka selittävät myös silakoiden eroavaisuuksia, koska tutkimusten mukaan silakan rasvahapot ovat rakenteeltaan lähes identtisiä planktonin rasvahappojen kanssa. Silakka ei siis suuremmin muokkaa syömiään rasvahappoja, vaan metabolia keskittyy tiettyihin rasvahappoihin.²¹

Silakan rasvahapoista erityisen suurta huomiota kiinnitetään EPA:n ja DHA:n määriin. Yleisesti ottaen kaikki tutkimustulokset viittaavat siihen, että DHA:n prosentuaalinen osuus on koko ajan EPA:a suurempi. EPA:a silakka saa paljon planktonista samoin kuin erukahappoa, joka on etenkin hankajalkaisten tärkeimpien rasvahappojen joukossa.²⁰

3.4 Yleinen katsaus ravintoketjuihin ja planktonien rasvahappoihin

Itämeren perustuottaja on eläinplanktonin ravintonaan käyttämä kasviplankton, jonka lajit ovat yleisesti autotrofisia eli kykenevät yhteyttämään sitoen hiilidioksidia ja vapauttaen happea. Eläinplanktonilla tarkoitetaan mikroskooppisen pieniä eläimiä, jotka ovat ravintoa kalanpoikasille ja planktonia syöville kaloille. Nämä kalat maistuvat monille pedoille, kuten ihmiselle ja linnuille. Täten eläinplankton toimii ravintoverkostossa perustuottajien ja petojen välisenä tärkeänä linkkinä, jolloin näistä kolmesta ekosysteemin portaasta muodostuu tehokas energiaa siirtävä, lyhyt ravintoketju.

Itämeren ravintoketjuja on tutkittu rasvojen osalta melko vähän eikä etenkaan rasvahappokoostumuksista löydy paljoa tietoa. Tutkimukset ovat lähinnä keskittyneet silakan ravintoketjuun.

Itämeren rannikoilta on tutkittu planktonien rasvahappokoostumusta. Itämeren planktonlajisto on monimuotoinen ja lajien ominaisuuksista johtuen kaikkina vuodenaikoina saadaan näytteisiin eri kasvuvaiheissa olevia lajeja. Näiden lajien eri yksilöiden kasvuvaihe vaikuttaa kunkin rasvahappokoostumukseen ja täten myös saadun kokoomanäytteen kokonaisrasvahappokoostumukseen.²²

Alkukesästä piilevät on vallitseva planktonluokka Itämerellä ja kesän edetessä yleistyvät rataseläimet (*Rotatoria*) ja niiden jälkeen vesikirput (*Cladocera*) sekä hankajalkaiset (*Copepoda*). Planktonlajien välillä on pieniä vaihteluja rasvahappokoostumuksessa, mutta tutkimusten avulla on saatu selville sekä kasviplanktonin että eläinplanktonin yleisin rasvahappokoostumus.²²

Kasviplanktonien rasvahapoista jopa yli 60 % on rasvahappoja, joissa on 16 hiiliatomia. Näistä rasvahapoista merkittävästi eniten on palmitiinihappoa ja palmitoleiinihappoa. Seuraavaksi eniten on EPA:a ja myristiinihappoa.²²

Eläinplanktonissa rasvahappokoostumukseen kuuluu paljon samoja rasvahappoja kuin kasviplanktonissakin ja niiden prosentuaaliset osuudet ovat melko samoja. Rasvahapoista palmitiinihappo sekä rasvahapot, joissa on 20 tai 22 hiiliatomia ovat eläinplanktonissa vallitsevia rasvahappoja, jotka esiintyvät lähes poikkeuksetta tyydyttymättöminä.²²

4 RASVAHAPPOKOOSTUMUKSEN MÄÄRITYS

4.1 Näytteet

Tutkimuksen näytteinä oli silakoita, mätiä, merestä haavittua, erittelemätöntä planktonmassaa sekä massasta erikseen poimittuja *Limnocalanus*-hankajalkaisia. Tutkimuksen alkuperäinen näytteenottosuunnitelma ei toteutunut täydellisesti muun muassa pitkien troolauskieltojen vuoksi, mutta taulukossa 1 kuvattu toteutunut näytteenotto on kuitenkin tutkimuksen kannalta riittävän kattava.

Silakat otettiin sekä Selkämeren troolisaaliista että Airiston rysäsaaliista. Airiston matalan veden silakat olivat kutevia naaraita, joilta kerättiin myös mäti talteen. Muuten silakoista preparoitiin nahattomat lihasnäytteet ja määritettiin silakoiden syömä ravinto. Planktonnäytteet on kerätty 20 m syvyydestä haavilla, jonka silmäkoko oli 100 µm. Näin kerätty näyte sisältää sekä kasviplanktonia että eläinplanktonia. Saatu näyte pakkaskuivattiin ja pienestä erästä tehtiin lajistomääritys. *Limnocalanus*-hankajalkaiset kerättiin 50 m syvyydestä haavilla, jonka silmäkoko oli 150 µm. Noin kahden litran merivesipullon sisältö tyhjennettiin laboratoriossa petrimaljoille, joista hiilidioksidin avulla huumatut hankajalkaiset saatiin poimittua yksitellen näyteputkiin, joihin lisättiin säilöntäaineeksi kloroformi-metanoli -liuosta (2:1, v/v).

Taulukko 1 Toteutunut näytteenotto.

Näytetyyppi	Silakka	Kuteva silakka	Mäti	Plankton	<i>Limnocalanus</i>
Pvm (näytteiden lkm)	3.6. (25)	-	-	23.5. (1)	23.5. (4)
	-	17.6. (5)	17.6. (5)	12.6. (1)	12.6. (4)
	-	-	-	1.7. (1)	1.7. (4)
	26.9. (10)	-	-	9.9. (1)	9.9. (3)

Näytteistä ei analysoitu kaikkia, vaan toteutuneen näytteenoton pohjalta laadittiin analysointisuunnitelma. Ensimmäisestä silakkaerästä valittiin analysoitavaksi 5 silakkaa, joiden tiedettiin syöneen paljon *Limnocalanusta*. Kutevat silakat ja niiden mätinäytteet analysoitiin kaikki. Viimeisestä silakkaerästä valittiin 5 silakkaa samoin perustein kuin ensimmäisestä erästä. Planktonnäytteistä otettiin jokaisesta joko pieni osa näytettä tai pienten näytteiden kohdalla koko näyte analysoitavaksi. *Limnocalanus*-näytteistä otettiin analysoitavaksi yksi näyteputkilo jokaisesta näyte-erästä.

4.2 Homogenointi ja liuotinuutto

Homogenoinnin tavoite on saada näytteestä mahdollisimman tasalaatuista niin, että näytteestä voidaan ottaa osa, joka edustaa kerralla koko näytettä. Esimerkiksi silakan lihas koostuu useista erilaisista osista, joiden rasvahappokoostumus saattaa vaihdella. Tarkoituksena on kuitenkin selvittää koko silakan rasvahappokoostumus lihasten avulla, jolloin näytteessä tulee olla osia niin lihaksen pinnasta kuin lihaksen ääripäistä (kuten pyrstöstä). Rasvahapot ovat kudoksessa useissa eri muodoissa. Yksinkertaiset rasvahapot ovat usein suurien kokonaisuuksien osia esimerkiksi varastorasvoissa ja ne on suhteellisen helppo saada uutettua irti. Sen sijaan yhdistelmälipidit ovat yleensä solukalvojen rakenneosia, jolloin ne ovat tiiviisti liitoksissa proteiinien ja sokerien kanssa, eivätkä ne irtoa helposti. Rasvojen uuttamiseksi irti kudoksista on tärkeää löytää liuottimet, jotka kykenevät rasvahappojen liuottamisen lisäksi voittamaan rasvahappojen ja kudostatriksin väliset vuorovaikutusvoimat.¹⁴

Liuotinuuttoon käytettiin rasvahappoanalyyseissä yleisesti käytettyä kloroformi-metanoli -uuttoa, jonka menetelmistä tunnetuimpia ovat muun muassa Folchin, Leesin ja Stanley'n menetelmät. Sekä tässä työssä käytetyssä että ainakin Folchin menetelmässä kloroformin ja metanolin tilavuuksien suhde on 2:1. Menetelmän on todettu toimivan tehokkaimmin niin, että näytettä käsitellään ensin pelkässä metanolissa ja vasta toiseen käsittelyyn lisätään metanolin joukkoon kloroformia.¹⁴

Kloroformi-metanoli -käsittelyn jälkeen seokseen lisätään epäpuhtauksien poistamiseksi suolaliuosta yksi neljäsosa aikaisemmasta tilavuudesta. Suolaliuoksena käytettiin kaliumkloridin 0,88 % vesiliuosta. Sekoituksen jälkeen seos jakautuu kahteen faasiin niin, että alafaasissa ovat rasvahapot sekä kloroformi ja yläfaasissa metanoli, vesi sekä kontaminoivat aineet, kuten suolat ja aminohapot.¹⁴

4.2.1 Silakka ja mäti

Mätinäytteet käsiteltiin samoin kuin silakkanäytteet, joiden menetelmä pohjautuu useisiin vastaaviin menetelmiin, joita on käytetty eri kalalajien rasvahappojen analysointiin. Silakan lihasfile leikeltiin ensimmäiseksi saksilla mahdollisimman pieniksi paloiksi, jotta nahattomasta fileestä saati tasainen näyte, jossa on lihasta kalan koko pituudelta. Lihaksesta punnittiin tarkkaan muutaman gramman näyte dekantterilasiin. Mätinäytettä ei leikeltä vaan työskentely aloitettiin punnitsemisesta. Mätinäytteestä pyrittiin poimimaan pelkkiä mätipalloja ilman mätipussin rakenteita.

Menetelmän tehokkaimman toimintatavan mukaisesti punnitun näytteen joukkoon lisättiin 20 ml metanolia ja seos käsiteltiin Ultra Turrax T25 -homogenisaattorilla (Janke & Kunkel, Saksa). Tämän jälkeen joukkoon lisättiin 40 ml kloroformia ja suoritettiin taas sekoitus homogenisaattorilla. Näyte suodatettiin vakuuissa, ja suodatusjäännös siirrettiin takaisin dekantterilasiin. Suodatusjäännöksen joukkoon lisättiin 60 ml kloroformi-metanolia (2:1, v/v), ja suoritettiin sekoitus. Terä ja dekantterilasi huuhdeltiin 30 ml:lla kloroformi-metanolia, ja suoritettiin vakuumsuodatus. Kukin suodos siirrettiin erotussuppiloon.

Erotussuppiloon lisättiin 37,5 ml 0,88 % kaliumkloridin vesiliuosta ja suoritettiin sekoitus. Faasien erotuttua poistettiin vakuumi-imulla ylempi faasi. Alempi faasi pestiin 75 ml:lla metanoli-0,88 % kaliumkloridi -seosta (1:1). Pesun jälkeen alempi faasi siirrettiin keittopulloon ja liuotin haihdutettiin pyöröhaihduttimella. Näyte punnittiin ja liuotettiin 2 ml:aan kloroformia.

4.2.2 Planktonnäytteet ja *Limnocalanus*-näytteet

Planktonnäytteiden sekä *Limnocalanus*-näytteiden kohdalla käytettiin hyvin vastaavaa menetelmää kuin silakoilla ja mätinäytteillä, mutta pienet muutokset pohjautuvat menetelmään, jota on käytetty pienempien näytemäärien rasvahappoanalyyseihin.

Planktonnäytteestä punnittiin tarkkaan muutamien milligrammojen näyte koeputkeen, johon oli lisätty sisäisenä standardina rasvahappoa 17:0 kloroformiliuoksessa ja 200 µl 0,88 % kaliumkloridin vesiliuosta. Sisäisen standardin määrä on tarkkaan tunnettu, ja sisäisen standardin liuottimena käytetty kloroformi haihdutettiin ennen näytteen punnitsemista. Koeputkeen lisättiin 1,5 ml metanolia samalla välineet huuhdellen. Näyte sekoitettiin vorteksoimalla ja joukkoon lisättiin 3 ml kloroformia. Koeputkeen puhallettiin typpeä suojakaasuksi rasvojen hapettumisen ehkäisemiseksi, ja näyte sekoitettiin. Tämän jälkeen koeputkea ravisteltiin tunnin verran koeputkenravistelijassa (n. 460 U/min).

Limnocalanus-näytteitä ei punnittu, vaan kloroformi-metanoli -liuokseen säilöttyjen hankajalkaisten liuoksen määrä mitattiin mittalasilla. Mittalasista liuos ja siinä mukana olevat *Limnocalanus*-hankajalkaiset kaadettiin koeputkeen, johon oli lisätty sisäinen standardi (17:0) ja kaliumkloridin vesiliuosta kuten planktonnäytteillä. Mittalasi huuhdeltiin ja kloroformi-metanoli -liuoksen kokonaistilavuus kirjattiin. Koeputkeen lisättiin typpeä, näyte sekoitettiin ja koeputkea ravisteltiin.

Ravistelun jälkeen sekä planktonnäytteiden että *Limnocalanus*-näytteiden liuokset pestiin 0,88 % kaliumkloridin vesiliuoksella niin, että vesiliuoksen tilavuus oli neljännes aikaisemmasta kokonaistilavuudesta. Näyte sekoitettiin ja alafaasiksi muodostunut kloroformifaasi kerättiin talteen. Liuotin haihdutettiin, näyte punnittiin ja liuotettiin 1 ml:aan kloroformia.

Sisäisen standardin määrä laskettiin arvioitujen tulosten perusteella huomioiden näytteen paino ja arvioitu rasvahappopitoisuus. Sisäisen standardin määräksi tavoiteltiin noin 10 % kaikista rasvahapoista. Planktonnäytteen kohdalla sisäisen standardin määrän määräsi näytteen paino, *Limnocalanus*-näytteiden kohdalla *Limnocalanusten* lukumäärä.

4.3 Metylointi

Metyloinnilla saadaan luonnostaan haihtumattomat rasvahapot muutettua haihtuvaan muotoon. Metyloinnissa rasvahappo reagoi metanolin kanssa muodostaen rasvahapon metyyliesterin sekä vettä. Reaktiota voidaan katalysoida happojen tai emästen kanssa.

Työskentelyssä käytettiin happokatalysoitua metylointia, jossa booritrifluoridi toimi happona. Booritrifluoridi on Lewis-happo, joka pystyy vastaanottamaan elektroniparin, ja vaarallinen kemikaali, jota ei tule hengittää ja joka on voimakkaasti syövyttävää.²³ Se toimitetaan metanoliliuoksessa, joten metylointiin tarvittava metanoli tulee lisättyä booritrifluoridin mukana reaktioseokseen.

Metyloinnin alussa silakka- ja mätinäytteiden metylointiputkiin lisättiin tunnettu määrä sisäistä standardia (17:0). Planktonnäytteissä ja *Limnocalanus*-näytteissä sisäinen standardi oli jo mukana. Metylointiputkeen lisättiin haluttu määrä uutetta, 100 µl tolueenia ja 500 µl booritrifluoridia. Putkea kuumennettiin tunti 92 °C:ssa, jonka jälkeen joukkoon lisättiin 800 µl milli-Q-vettä ja 1 000 µl heksaania. Sekoitetusta reaktioseoksesta otettiin talteen heksaanipitoinen yläfaasi, jossa rasvahappojen metyyliesterit olivat.

Limnocalanus-näytteiden heksaanifaasit konsentroidiin haihduttamalla talteen otettu näyte ja lisäämällä tilalle vain 400 µl heksaania, kun alkutilanne oli runsas 1 ml. Näin saatiin pienestä rasvahappomäärästä huolimatta selkeät piikit kaasukromatografian tuloksiin.

4.4 Kaasukromatografia

Joko uutossa tai metyloinnissa näytteiden joukkoon lisättynä sisäisenä standardina käytettiin TAG 17:0 -standardia. 17:0 on luonnossa hyvin harvoin esiintyvä rasvahappo, koska sen rasvahappoketjussa on pariton määrä hiiliatomeita. Koska voidaan olettaa, että näytteissä ei ole rasvahappoa 17:0, voidaan sitä käyttää sisäisenä standardina. Sisäisen standardin piikin ja tunnetun määrän avulla saadaan kaasukromatografian tuloksista määritettyä rasvahappojen absoluuttiset määrät.

Rasvahaponäytteet analysoitiin Shimadzu (Japani) GC-2010 kaasukromatografilla. Käytetyssä kaasukromatografissa on automaattinen injektor ja liekki-ionisaatiodektekto (FID). Käytetty kolonnipylväs oli "Wall coated open tubular column DB-23" (pituus 60 m, sisähalkaisija 0,25 mm ja kalvon paksuus 0,25 µm, valmistaja Agilent technologies, Yhdysvallat). Näytteen injektioilavuus oli 0,5 µl (splitless-injektio). Kantajakaasuna toimi helium, jonka paine oli 220,3 kPa ja virtaus kolonniin 1,35 mL/min. Injektorin lämpötila oli 270 °C ja detektorin lämpötila 280 °C. Kolonnin lämpötilaohjelma on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2 Kaasukromatografian lämpötilaohjelma.

Muutos (+ °C/min)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)
-	130	1
4,5	170	0
10	220	3,5
10	230	11
60	240	3

5 TULOKSET

5.1 Kromatografia

Kaasukromatografi antoi tuloksina erilliset kromatogrammit eli niin sanotut piikkikuvaajat jokaisesta näytteestä. Kromatogrammien piikit tunnistettiin retentioaikojen perusteella käyttäen avuksi rasvahappostandardisekoitusta 68D (Supelco, Yhdysvallat). Sen rasvahappokoostumus on tarkoin tunnettu, jolloin yksittäiset piikit pystytään tunnistamaan. 68D:n rasvahappokoostumus on esitelty liitteessä 1.

5.2 Rasvahappokoostumus

Kaasukromatografian tunnistetuista tuloksista saatiin valmiit taulukot, joihin oli kirjattu rasvahappojen nimet, retentioajat sekä piikkien pinta-alat. Rinnakkaismetylointien tuloksia verrattiin toisiinsa ja suuret poikkeavuudet tarkistettiin kromatogrammeista. Usein kyse oli väärästä tunnistuksesta, joka pystyttiin korjaamaan. Rinnakkaismetylointien tulosten pinta-aloista otettiin keskiarvo. Rasvahappojen prosentuaaliset osuudet laskettiin vielä sekä rinnakkaismetyloinneille että keskiarvoille, jotta tulokset saatiin vielä kerran tarkistettua. Prosentuaaliset osuudet laskettiin kaavalla:

$$\text{rasvahapon osuus (massa-\%)} \text{ kaikista rasvahapoista} = 100 \% * \frac{A_a}{A_{tot}}$$

jossa: A_a = rasvahapon piikin pinta-ala ja A_{tot} = kaikkien rasvahappopiikkien yhteenlaskettu pinta-ala.

Varsinaiset rasvahappokoostumukset määritettiin prosentuaalisesti käyttäen rinnakkaismetylointien keskiarvoa tuloksena, jolloin jokaisen rasvahapon kohdalla uutettu näyte tuotti yhden tuloksen. Taulukoista poistettiin turhat tiedot ja määriteltiin ”muut”-sarake, johon summattiin parittomien rasvahappojen,

tuntemattomien rasvahappojen sekä prosentuaalisesti pieniarvoisten rasvahappojen prosenttiosuudet.

Tuloksten tarkasteluun valittiin periaate, jonka mukaisesti samana päivänä pyydetty silakat sekä silakoista talteen kerätty mätinäytteet ovat toistensa rinnakkaisnäytteitä ja plankton sekä *Limnocalanus* ovat kaikki yksittäisiä näytteitä ilman rinnakkaisnäytteitä, koska kaikki on kerätty eri ajankohtina. Koska rinnakkaisnäytteistä saadaan enemmän tulosaineistoa, laskettiin näiden tuloksista sekä keskiarvo että keskihajonta. Taulukoissa 3–5 on kuvattu koonnit rasvahappokoostumuksista niin, että taulukoissa on eritelty tyydyttyneet, kertatyydyttymättömät ja monityydyttymättömät rasvahapot.

Taulukko 3 *Limnocalanus*-näytteiden rasvahappokoostumukset.

Näyte kerätty	23.5.	12.6.	1.7.	9.9.
<i>Limnocalanus</i> , lkm	30	30	30	32
tyydyttyneet				
14:0	0,7%	2,7%	2,0%	2,2%
16:0	3,7%	9,0%	9,3%	10,5%
18:0	9,9%	2,8%	3,6%	1,5%
20:0	9,7%	0,8%	3,1%	0,3%
22:0	7,1%	22,7%	1,0%	1,5%
24:0	0,2%	0,0%	11,5%	1,4%
kertatyydyttymättömät				
16:1(n-7)	5,6%	1,1%	0,7%	1,7%
18:1(n-9)	2,1%	6,3%	5,7%	18,0%
18:1(n-7)	0,4%	0,5%	1,0%	2,5%
22:1(n-9)	0,7%	0,8%	4,1%	0,9%
24:1(n-9)	0,2%	1,3%	0,8%	1,1%
monityydyttymättömät				
18:2(n-6)	1,7%	8,3%	6,2%	9,7%
18:3(n-3)	1,0%	0,0%	3,3%	2,1%
20:2(n-6)	8,3%	1,4%	0,8%	2,5%
20:3(n-3)	0,2%	0,9%	0,8%	2,1%
20:5(n-3)	1,3%	0,0%	9,3%	9,2%
22:6(n-3)	3,2%	9,8%	15,8%	15,0%
18:4(n-3)	0,9%	3,9%	0,0%	2,9%
MUUT	42,3%	25,0%	19,4%	12,6%

Limnocalanus-näytteissä havaitaan laaja kirjo erilaisia rasvahappoja. Tulokset ovat keskenään vertailukelpoisia ja muodostavat sekä laskevia että nousevia trendejä vuodenaikojen vaihtuessa kevästä syksyyn. *Limnocalanus*-näytteistä 12.6. kerätty näyte jätetään tarkempien tarkastelujen ulkopuolelle, koska näyte jouduttiin käsittelemään muista poikkeavalla tavalla sen säilöntäliuotimen (formaliinin) takia.

Taulukko 4 Planktonnäytteiden rasvahappokoostumukset.

Näyte kerätty	23.5.	12.6.	1.7.	9.9.
tyydyttyneet				
14:0	11,6 %	8,6 %	8,3 %	7,9 %
16:0	17,0 %	20,7 %	25,1 %	20,0 %
18:0	0,7 %	4,4 %	6,1 %	3,3 %
20:0	4,1 %	0,9 %	3,5 %	5,2 %
kertatyydyttymättömät				
16:1(n-7)	22,9 %	7,5 %	5,4 %	6,7 %
18:1(n-9)	8,0 %	6,7 %	5,8 %	5,0 %
18:1(n-7)	0,0 %	1,1 %	1,7 %	2,3 %
20:1(n-9)	5,2 %	0,9 %	0,0 %	0,9 %
22:1(n-9)	0,7 %	1,8 %	2,4 %	0,5 %
monityydyttymättömät				
18:2(n-6)	1,7 %	4,5 %	4,2 %	2,7 %
18:3(n-3)	1,5 %	6,7 %	6,2 %	6,8 %
20:5(n-3)	12,1 %	11,2 %	12,6 %	15,7 %
22:6(n-3)	8,5 %	15,2 %	13,9 %	13,2 %
MUUT	5,9 %	9,8 %	4,8 %	9,9 %

Planktonnäytteissä havaitaan huomattaviakin rasvahappojen välisiä prosentuaalisia eroja lajistovaihtelujen vuoksi.

Taulukko 5 Silakoiden ja mätinäytteiden rasvahappokoostumukset.

Näyte	silakat 3.6.	kutevat silakat 17.6.	silakat 26.9.	mädit 17.6.
tyydyttyneet				
14:0	3,0 ± 0,6 %	3,5 ± 0,9 %	3,2 ± 0,2 %	2,4 ± 0,4 %
16:0	21,5 ± 0,9 %	21,7 ± 0,6 %	21,9 ± 1,0 %	24,6 ± 0,9 %
18:0	2,4 ± 0,7 %	2,1 ± 0,3 %	1,7 ± 0,8 %	1,9 ± 0,3 %
22:0	0,9 ± 0,6 %	0,4 ± 0,2 %	0,2 ± 0,1 %	0,9 ± 0,3 %
kertatyydyttymättömät				
16:1(n-7)	6,0 ± 2,9 %	6,3 ± 2,2 %	7,0 ± 1,6 %	4,8 ± 1,2 %
18:1(n-9)	12,6 ± 2,2 %	18,5 ± 6,4 %	14,7 ± 3,4 %	10,1 ± 1,2 %
18:1(n-7)	3,7 ± 0,8 %	3,9 ± 0,8 %	4,0 ± 0,3 %	4,2 ± 1,4 %
24:1(n-9)	1,1 ± 0,1 %	1,4 ± 0,4 %	1,1 ± 0,1 %	0,8 ± 0,1 %
monityydyttymättömät				
18:2(n-6)	5,1 ± 0,8 %	5,9 ± 0,5 %	6,4 ± 0,8 %	4,1 ± 0,4 %
18:3(n-3)	2,2 ± 0,8 %	0,6 ± 1,2 %		2,3 ± 0,5 %
20:2(n-6)	1,5 ± 0,3 %	1,7 ± 0,5 %	2,5 ± 0,4 %	
20:4(n-6)	1,1 ± 0,1 %	0,9 ± 0,3 %	0,9 ± 0,1 %	
20:3(n-3)	0,7 ± 0,4 %	0,7 ± 0,3 %	1,6 ± 0,3 %	
20:5(n-3)	9,0 ± 0,6 %	7,0 ± 1,6 %	7,9 ± 0,9 %	11,3 ± 0,8 %
22:6(n-3)	21,1 ± 6,2 %	17,5 ± 4,8 %	14,9 ± 3,1 %	25,9 ± 1,8 %
18:4(n-3)	2,3 ± 1,3 %	1,5 ± 0,9 %	2,3 ± 0,5 %	
MUUT	5,9 ± 1,8 %	6,4 ± 0,7 %	9,6 ± 0,6 %	6,7 ± 0,6 %

Silakka- ja mätinäytteiden rasvahappokoostumukset vastaavat läheisesti toisiaan. Silakoissa havaitaan selkeää kuukausittaista vaihtelua.

6 TULOSTEN TULKINTAA JA VERTAILUA

Seuraavassa tuloksia tarkastellaan näytetyypeittäin edeten ravintoketjussa perustuottajista petoihin päin. Taulukoissa 6 ja 7 esitetään planktonnäytteiden rasvahappokoostumukset, ja näistä taulukoista on syytä huomioida, ettei erilaisten rasvahappoluokkien summaksi tule 100 %, koska tarkastelusta puuttuvat ”muut”-ryhmän rasvahapot. Lopuksi vertaillaan planktonin ja silakan tuloksia. Tuloksista voidaan todeta, että kokonaisrasvahappokoostumuksessa prosentuaalisesti merkittävät osuudet kuuluvat rasvahapoille, jotka ovat luonnon perusrasvahappoja. Niissä on parillinen määrä hiiliatomeja ja mahdolliset kaksoissidokset ovat *cis*-konfiguraatiossa.

Planktonnäytteissä ei esiinny kovinkaan suurta määrää erilaisia rasvahappoja, mutta rasvahappojen prosentuaaliset osuudet kaikista rasvahapoista vaihtelevat suuresti. Kuitenkin kun kunkin rasvahappoluokan eri rasvahappojen prosentuaaliset osuudet summataan, saadaan taulukon 6 mukainen melko tasaväkinen tilanne selville. Rasvahappoluokista mikään ei siis selvästi dominoi rasvahappokoostumusta, vaan kaikkia rasvahappoluokkia on noin kolmannes rasvahapoista. On kuitenkin huomionarvoista nostaa esille, että monityydyttymättömien ja kertatytydyttymättömien keskinäiset osuudet näyttävät keväällä olleen huomattavasti erilaiset kuin muissa näytteissä. Eroavaisuus voi johtua muun muassa lajistoeroista.

Taulukko 6 Planktonnäytteiden rasvaluokkien prosenttiosuudet.

Näyte kerätty	23.5.	12.6.	1.7.	9.9.
tyydyttyneet	33,4%	34,5%	43,0%	36,4%
kertatytydyttymättömät	36,9%	18,1%	15,4%	15,4%
monitytydyttymättömät	23,9%	37,7%	36,8%	38,4%

Planktonnäytteistä voidaan vetää vain yksi luotettava johtopäätös; EPA on yksi planktonin päärasvahapoista. Vastaavaan tulokseen on päädytty myös Itämeren planktonitutkimuksessa, joten EPA lienee yleisesti lähes kaikkien planktonlajien päärasvahappojen joukossa.²⁰

Planktonnäytteiden kohdalla yleisesti paikkansa pitävä johtopäätös EPA:n merkittävyydestä on hieman kyseenalainen saamiemme *Limnocalanus*-tulosten osalta. Osassa *Limnocalanus*-näytteistä johtopäätös näyttäisi pitävän paikkansa, mutta pienen näytemäärän vuoksi on mahdotonta vetää johtopäätöstä tässä asiassa.

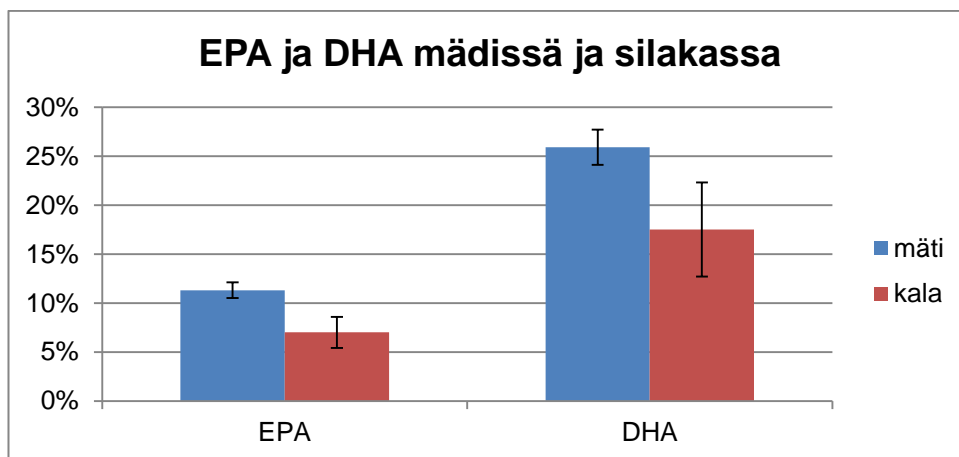
Limnocalanus-näytteiden tuloksissa on laaja kirjo erilaisia rasvahappoja ja yksilöiden välisissä rasvahappojen prosenttiosuuksissa on selkeää vaihtelua. Kuitenkin osasta tuloksia saadaan muodostettua vuodenaikojen muutoksen mukainen trendi. Esimerkiksi palmitiinihapon ja öljyhapon prosenttiosuudet nousevat syksyä kohden. Myös rasvahappoluokkien muutos näyttäisi seuraavan vuodenaikojen niin, että tyydyttyneiden rasvahappojen määrä laskee syksyä kohden ja tyydyttymättömien määrä nousee kuten taulukosta 7 nähdään.

Taulukko 7 *Limnocalanus*-näytteiden rasvahappoluokkien prosenttiosuudet.

Näyte kerätty	23.5.	1.7.	9.9.
tyydyttyneet	31,4%	30,5%	17,5%
kertatyydyttymättömät	9,0%	12,2%	24,2%
monityydyttymättömät	16,6%	36,3%	43,3%

Kutevista silakoista analysoitujen mätinäytteiden rasvahappokoostumus vastaa pitkälti silakoiden lihasnäytteiden rasvahappokoostumusta. Mädin selkeästi tärkein rasvahappoluokka on monityydyttymättömät rasvahapot, joiden osuus on yhteensä noin 50 % kaikista mädin rasvahapoista. Saatu tulos tukee aikaisempien tutkimusten vastaavaa johtopäätöstä. Myös tarkennukset monityydyttymättömien rasvahappojen vallitsevista rasvahapoista pitävät paikkansa, kun monityydyttymättömistä tärkeimpiä rasvahappoja ovat EPA ja DHA.¹⁷

Verrattaessa silakan mädin ja lihaksen rasvahappokoostumuksia huomataan, että EPA:n ja DHA:n osuudet kokonaisrasvahapoista ovat mädissä selkeästi suuremmat kuin kalassa itsessään. Tämä ero on nähtävissä kuviossa 2, jonka lukuarvot ovat liitteessä 2. Kyseisten rasvahappojen varastoituminen mätiin selittyy mädin rakenteella, jossa on paljon kalvoja, joiden rakenneosina EPA ja DHA toimivat.

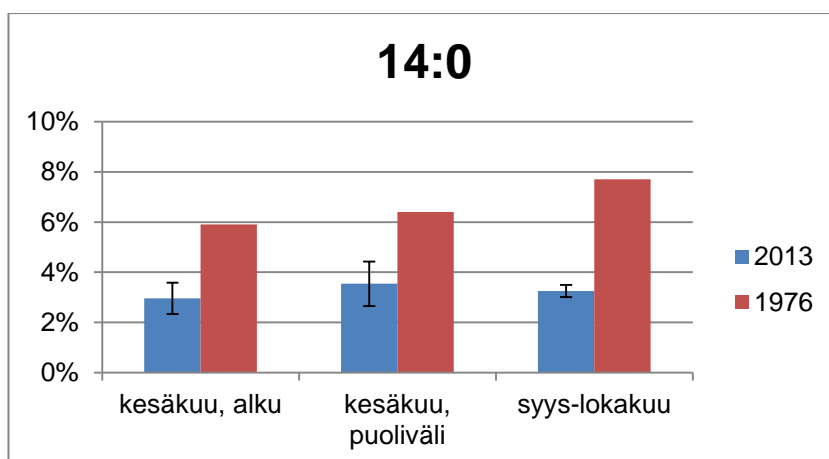


Kuvio 2 EPA:n ja DHA:n osuudet kokonaisrasvahapoista mädissä ja kalassa.

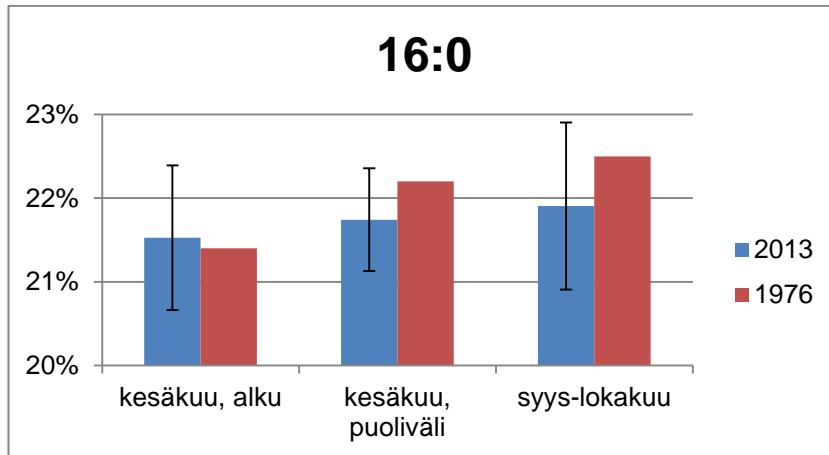
Silakoiden lihasnäytteiden tuloksissa havaitaan jonkin verran vuodenaikojen muutokseen liittyviä rasvahappojen prosenttiosuuksien vaihtelua. Yleisesti ottaen useimpien rasvahappojen prosenttiosuus pysyy kuitenkin suhteellisen vakiona alkukesän ja syksyn välillä. Pientä laskevaa trendiä voidaan havaita esimerkiksi DHA:n tuloksissa, kun taas pientä nousevaa trendiä palmitoleiinihapon tuloksissa. Vuodenajasta riippumatta silakan rasvahappokoostumuksessa vallitsevat monityydyttymättömät rasvahapot, joista suurimmat prosenttiosuudet kuuluvat EPA:lle ja DHA:lle kuitenkin niin, että DHA:n osuus on selkeästi suurempi kaikkina ajankohtina. Tyydyttyneistä rasvahapoista vallitseva on palmitiinihappo ja kertatyydyttymättömistä öljyhappo. Saadut tulokset tukevat aikaisempia tutkimustuloksia silakan yleisestä rasvahappokoostumuksesta.²⁰

Silakan rasvahappokoostumusta on tutkittu jo 1970-luvulla niin, että näytekalat ovat olleet vuodelta 1976.²¹ Tuloksia verrattaessa on kuitenkin syytä ottaa huomioon, että 1976 tutkimusmateriaalina on ollut silakoiden kokoomanäyte useista eri yksilöistä ja että uuttoon on käytetty hieman erilaista menetelmää. Pienet eroavaisuudet eivät kuitenkaan estä tulosten vertailua eivätkä rasvahappojen suhteet muutu erilaisesta tarkastelusta huolimatta.

Kuvioissa 3–6 sekä lukuarvallisesti liitteessä 3 on esitetty neljän eri rasvahapon prosenttiosuudet kokonaisrasvahapoista kummankin tutkimuksen tuloksista. Nämä neljä rasvahappoa on valittu tarkasteluun, koska ne kuvastavat sekä lyhyitä että pitkiä rasvahappoja, samoin kuin tyydyttyneitä ja tyydyttymättömiä. Vanhoissa tuloksissa ei voida huomioida keskihajontaa, koska kyse on yhdestä näytteestä. Sen sijaan uusissa tuloksissa kuvion arvo perustuu viiden rinnakkaisen kalan tuloksiin, joten myös keskihajonta voidaan havainnollistaa.

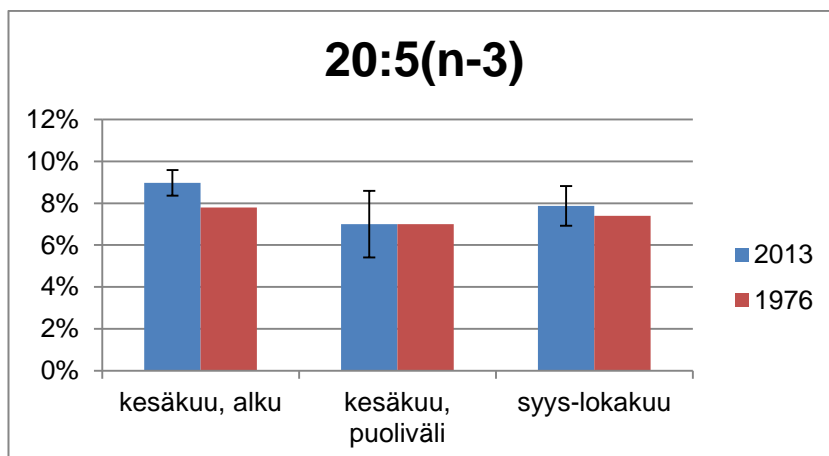


Kuvio 3 Rasvahapon 14:0 prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.

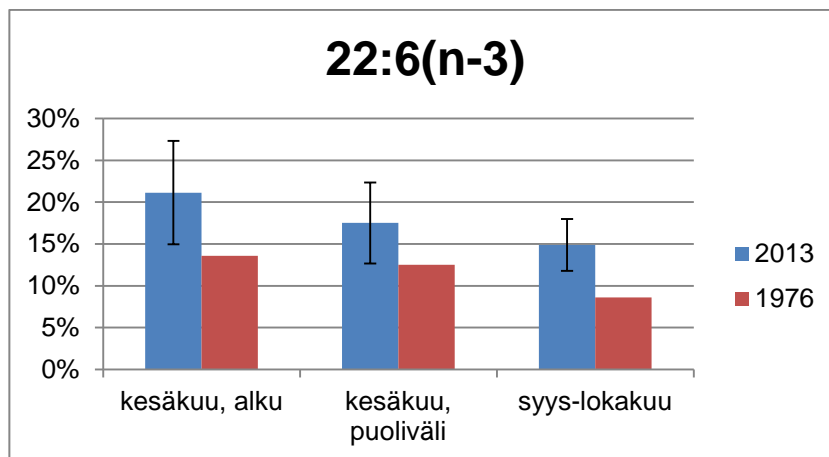


Kuvio 4 Rasvahapon 16:0 prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.

Kuvioista 3 ja 4 nähdään, että näiden tyydyttyneiden, melko lyhytketjuisten rasvahappojen prosentuaalinen osuus näyttäisi pienentyneen vuosien varrella.



Kuvio 5 EPA:n prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.



Kuvio 6 DHA:n prosentuaalinen osuus vuoden 2013 ja 1976 silakkanäytteiden kokonaisrasvahapoista.

Kuvioista 5 ja 6 nähdään, että näiden monityydyttymättömien, melko pitkäketjuisten rasvahappojen prosentuaaliset osuudet näyttäisivät kasvaneen vuosien varrella.

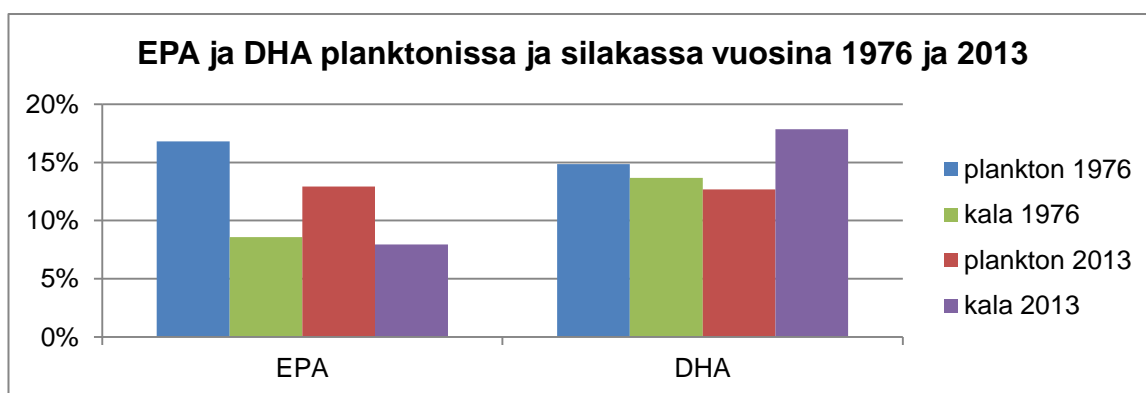
Näiden rasvahappojen suhteellisen määrän pienentyminen ja kasvaminen voisivat johtua Itämeren planktonlajiston muutoksista, kun suolapitoisuuden muuttuessa kaikki planktonlajit eivät kykene sopeutumaan uuteen ympäristöön ja niiden kannat taantuvat tai jopa häviävät kokonaan. Ravitsemuksellisesti muutos vaikuttaisi ihmisen kannalta positiiviselta, mutta on epäselvää, vaikuttaako muutos silakan biologiaan. Rasvahappokoostumuksen muutos voi vaikuttaa esimerkiksi silakan lisääntymiseen ja täten silakkakannan tiheyteen.

Jo 1970-luvulla on todettu, että silakan rasvahappokoostumus vaihtelee vuosittain. Tuolloin tutkimuksen vertailukohtana ovat olleet vielä vanhemmat tutkimustulokset muun muassa 1950-luvulta. Huomattavin havainto 1950-luvun ja 1970-luvun vertailussa oli rasvahappojen kokonaismäärän pienentyminen suolapitoisuuden laskiessa.²¹

Vuosien 1976 ja 2013 tulokset ovat selkeästi toisistaan poikkeavat, mutta muutosten syytä on toki vaikea yksiselitteisesti todeta. On selvää, että tällä aikavälillä Itämeren suolapitoisuus on laskenut ja suolapitoisuuden tiedetään vaikuttavan meren lajistoon ja tätä kautta lajien rasvahappokoostumukseen.²¹

Kun silakan ja planktonien tuloksia verrataan keskenään, voidaan havaita, että tyydyttyneitä rasvahappoja on sekä silakassa että planktonissa lähestulkoon yhtä paljon. Palmitiinihapon osuus on vain muutamien prosenttien tarkkuudella molemmissa näytemateriaaleissa sama, noin 20 %. Voidaan myös huomata, että keskenään yhtä pitkien rasvahappoketjujen osuudet ovat silakassa ja planktonissa hyvin lähellä toisiaan. Eroavaisuuksia toki myös havaitaan, mutta tulokset ovat keskenään hyvin vertailukelpoisia ja osoittavat keskinäistä yhteneväisyyttä. Koska tiedetään, että silakan ravinto vaikuttaa sen rasvahappokoostumukseen ja että silakka syö paljon planktonia, voidaan todeta, että planktonin rasvahappoketjut muuttuvat silakan lihaksiston rasvahapoiksi ilman huomattavia modifikaatioita. Vastaavia johtopäätöksiä on tehty 1970-luvun tutkimuksissa.²¹

Sekä planktonissa että silakassa on erittäin merkittäviä määriä EPA ja DHA rasvahappoja; nämä suhteelliset määrät ovat nähtävissä kuviossa 7, jonka lukuarvot on esitetty liitteessä 4. 2010- ja 1970-luvuilla otettujen näytteiden vertailussa rasvahappojen suhteet näyttävät näytemateriaaleissa muuttuneen niin että planktonissa näiden rasvahappojen määrä on pienentynyt ja silakassa kasvanut. 1970-luvulla on tultu siihen tulokseen, että planktonissa näiden molempien rasvahappojen osuus on suurempi kuin silakassa.²¹ Vuoden 2013 näytteiden tuloksissa planktonissa olevan EPA:n osuus on suurempi kuin silakassa olevan, mutta DHA:n kohdalla tilanne on päinvastoin ja DHA:n on osuus silakassa suurempi kuin planktonissa.



Kuvio 7 EPA:n ja DHA:n suhteelliset osuudet planktonin ja silakan kokonaisrasvahapoista.

7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Aikaisempiin tutkimustuloksiin verrattuna saadut tulokset ovat pääasiassa hyvin samansuuntaisia. Näytteiden rasvahappokoostumukset vastaavat pitkälti lähteiden antamia rasvahappokoostumuksia. Kuitenkin näytteiden tuloksissa havaitaan joitakin selkeitä muutoksia aikaisempiin tuloksiin nähden. Silakan ja sen saatavilla olevan planktonravinnon rasvahappokoostumuksia on tutkittu jo vuosikymmenien ajan, joten vertailupohjaa näille tuloksille löytyy.

Planktonnäytteen rasvahappokoostumukseen kuuluu selkeästi vähemmän erilaisia rasvahappoja kuin *Limnocalanuksen* rasvahappokoostumukseen. *Limnocalanus* on peto ja saadut tulokset tukevat käsitystä, että se syö sitä, mitä tarjolla on ja että tarjolla ollut ravinto vaikuttaa merkittävästi sen rasvahappokoostumukseen.

Silakan rasvahappokoostumus vastaa yleistä merellisten öljyjen rasvahappokoostumusta ja tähän rasvahappokoostumukseen vaikuttavat useat tekijät. Näistä tekijöistä osa koskee silakkayksilöä, osa taas sen elinympäristöä ja näytteenottoa. Silakan rasvahappokoostumus on muuttunut selkeästi vuoteen 1976 verrattuna, mutta vuosien välillä on tapahtunut paljon muutoksia, eikä voida varmaksi sanoa, että rasvahappokoostumus on muuttunut vain Itämeren makeutumisen vuoksi. Itämeren makeutuminen on kuitenkin muuttanut Itämeren planktonlajistoa ja tällä muutoksella lienee vaikutusta silakan rasvahappokoostumukseen.

LÄHTEET

- ¹ Tutkimuksen ”Itämeren tulevaisuus ja me: ilmastonmuutokset vaikutukset Itämeren pelagiaalin ekosysteemeissä” tutkimustiedote ja työsuunnitelma. Turun yliopisto, Saaristomeren tutkimuslaitos.
- ² Turun yliopisto, Turun yliopiston ympäristöntutkimuskeskus. Viitattu 10.4.2014. <http://www.utu.fi/fi/yksikot/tyyk/Sivut/home.aspx>.
- ³ Turun yliopisto, biokemian laitos. Viitattu 22.3.2014. <http://www.utu.fi/fi/yksikot/sci/yksikot/biokemia/Sivut/home.aspx>.
- ⁴ Ainutlaatuinen Itämeri. John Nurmisen säätiö. Viitattu 26.3.2014. <http://www.puhdasitameri.fi/fi/itameri>.
- ⁵ Suomen vesistöt, Itämeri. Maretarium. Viitattu 26.3.2014. http://www.maretarium.fi/mare/4_2_fi.php.
- ⁶ Itämeri – ongelmallinen menneisyys mutta toiveikas tulevaisuus. o2-gruppen. Viitattu 6.4.2014. <http://o2gruppen.se/fin.html#.U0FqC1f7CDk>.
- ⁷ Carlsson, M. 1997. Sea Level and Salinity Variations in the Baltic Sea – an Oceanographic Study using Historical Data. Department of Oceanography Göteborg University A14.
- ⁸ Tietoa Itämerestä. Itämeriportaali. Viitattu 22.3.2014. http://www.itameriportaali.fi/fi/tietoa/fi_FI/tietoa/.
- ⁹ Silakka. Riistan- ja kalantutkimus. Viitattu 26.3.2014. http://www.rktl.fi/kala/tietoa_kalalajeista/silakka/.
- ¹⁰ Parmanne, R.; Huolman, A. & Salmi, J. Silakan ravinto Selkämeren saaristossa. Kala- ja riistaraportteja nro 309. Helsinki 2004.
- ¹¹ Kuva – plankton. Peda.net-kouluverkko. Viitattu 11.5.2014. <https://peda.net/oppimateriaalit/e-oppi/ylakoulu/biologia/vedet/plankton2/mediamappi/kp/pkmejk>.
- ¹² Hankajalkaiset. Luontoportti. Viitattu 30.3.2014. <http://www.luontoportti.com/suomi/fi/itameri/hankajalkaiset>.
- ¹³ Vanderploeg, H. *et al.* 1998. *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) retains a marine arctic lipid and life cycle strategy in Lake Michigan. Journal of Plankton Research. Vol. 20 no.8 pp. 1581–1597.
- ¹⁴ Christie, William W. & Han Xianlin. 2010. Lipid analysis – Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis, Fourth edition. Published by The Oily Press.
- ¹⁵ Laine, L. 2013. Suomen Luonto. Otavan kirjapaino, Keuruu.
- ¹⁶ Kirjolohi. Riistan- ja kalantutkimus. Viitattu 9.4.2014. http://www.rktl.fi/kala/tietoa_kalalajeista/kirjolohi/.
- ¹⁷ Kaitaranta, J. & Linko, R. 1984. Fatty acids in the roe lipids of common food fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 79B, No. 3, pp. 331–334.

-
- ¹⁸ Kaitaranta, J. & Ackman, R. 1981. Total lipids and lipid classes of fish roe. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 69B, pp. 725–729.
- ¹⁹ Usydus, Z.; Szlifder-Richert, J. & Adamczyk, M. 2012. Variations in proximate composition and fatty acid profiles of Baltic sprat (*Sprattus sprattus balticus*). *Food Chemistry*, 130, pp. 97–103.
- ²⁰ Szlinder-Richert, J. *et al.* 2010. Variation in fat content and fatty-acid composition of the Baltic herring *Clupea harengus membras*. *Journal of Biology*, 77, pp. 585–599.
- ²¹ Linko, R.; Kaitaranta, J. & Vuorela, R. 1985. Comparison of the fatty acids in Baltic herring and available plankton feed. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 82B, No. 4, pp. 699–705.
- ²² Kaitaranta, J.; Linko, R. & Vuorela, R. 1986. Lipids and fatty acids in plankton from the Finnish coastal waters of the Baltic Sea. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 85B, No. 2, pp. 427–433.
- ²³ Booritrifluoridi metanoliliuoksessa. Käyttöturvallisuustiedote. Sigma Aldrich.

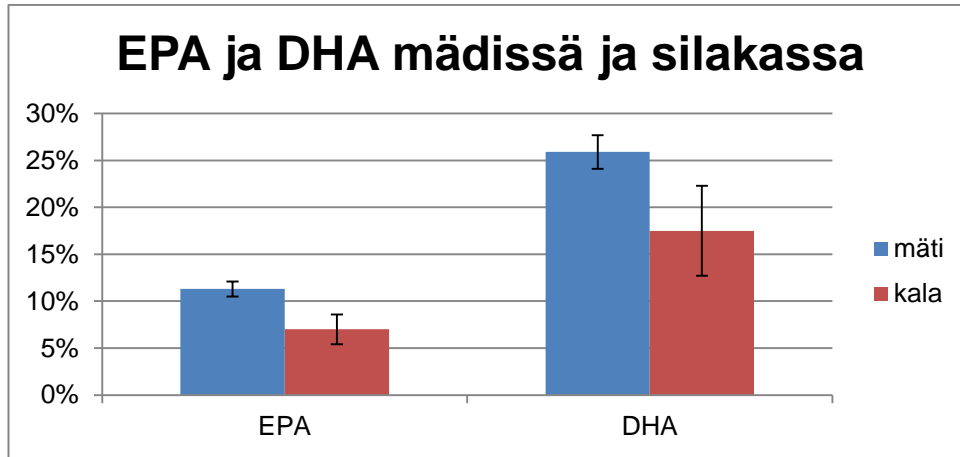
68D:n rasvahappokoostumus



REFERENCE STANDARD: 68D

<u>CHAIN</u>	<u>ITEM</u>	<u>WEIGHT %</u>	<u>ITEM PURITY%</u>
C14:0	METHYL MYRISTATE	6.0	99.7
C14:1	METHYL MYRISTOLEATE	1.0	99.4
C16:0	METHYL PALMITATE	16.0	99.6
C16:1	METHYL PALMITOLEATE	5.0	99.6
C18:0	METHYL STEARATE	8.0	99.7
C18:1	METHYL OLEATE	13.0	99.8
C18:1	METHYL VACCENATE	4.0	99.6
C18:2	METHYL LINOLEATE	2.0	99.7
C18:3	METHYL LINOLENATE	2.0	99.5
C20:0	METHYL ARACHIDATE	1.0	99.6
C20:1	METHYL 11-EICOSENOATE	9.0	99.5
C20:2	METHYL 11,14-EICOSADIENOATE	1.0	99.6
C20:4	METHYL ARACHIDONATE	3.0	99.4
C20:3	METHYL 11-14-17 EICOSATRIENOATE	1.0	99.4
C20:5	METHYL EICOSAPENTAENOATE	10.0	99.5
C22:0	METHYL BEHENATE	1.0	99.6
C22:1	METHYL ERUCATE	3.0	99.6
C22:6	METHYL DOCOSAHEXAENOATE	12.0	99.5
C24:0	METHYL LIGNOCERATE	1.0	99.6
C24:1	METHYL NERVONATE	1.0	99.5

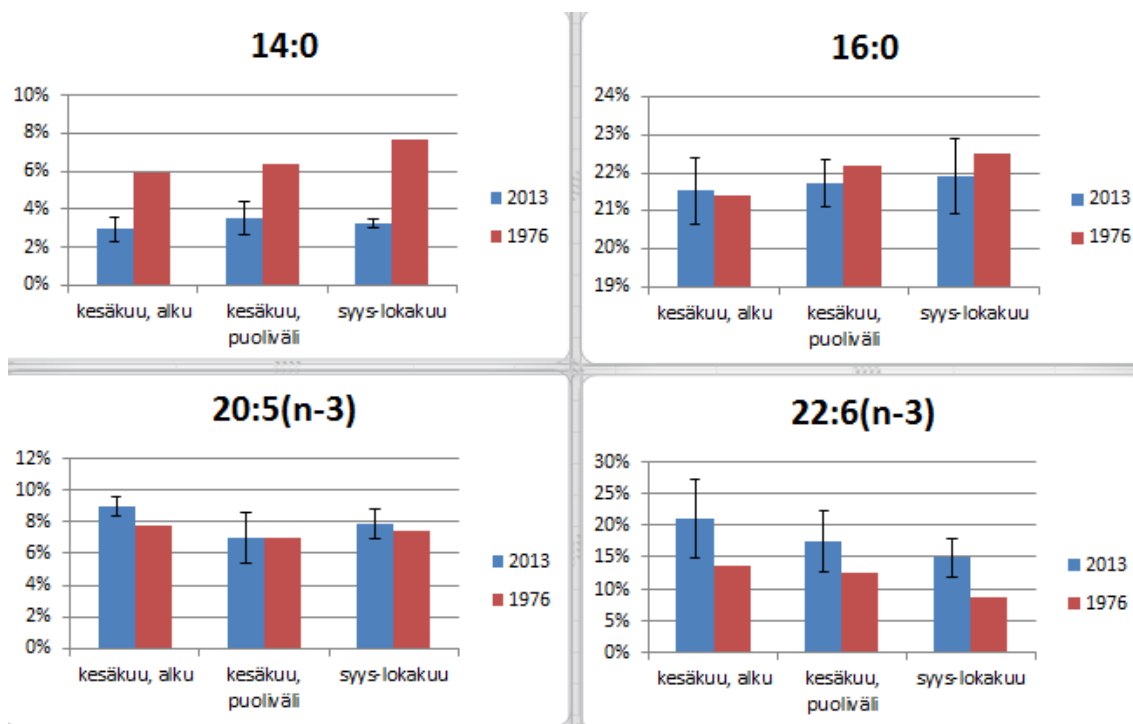
Kuvio 2 sekä kuvion kuvaajien lukuarvot.



Kuvio 2.

	EPA	DHA		EPA	DHA
mäti	11,3%	25,9%	kala	0,8%	1,8%
keskihajonta	7,0%	17,5%	keskihajonta	1,6%	4,8%

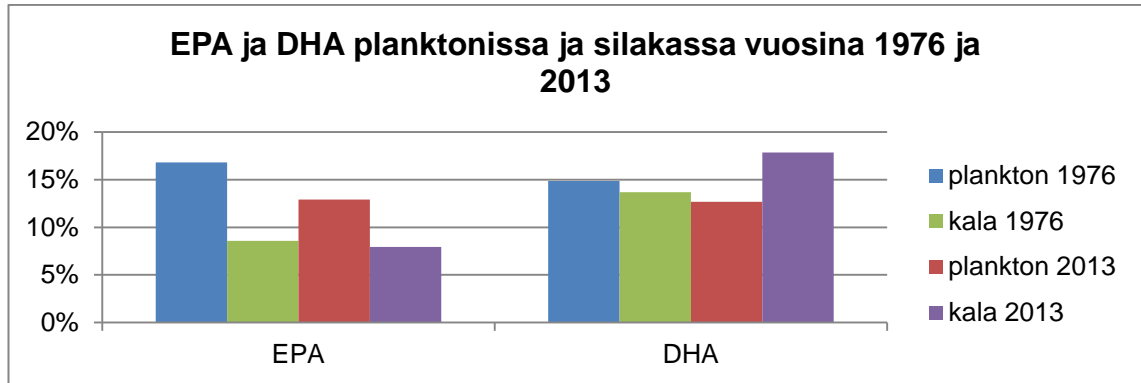
Kuviot 3–6 sekä kuvioiden kuvaajien lukuarvot.



Kuviot 3–6.

	14:00				16:00		
	2013	keskihajonta	1976		2013	keskihajonta	1976
kesäkuu, alku	3,0%	0,6%	5,9%		21,5%	0,9%	21,4%
kesäkuu, puoliväli	3,5%	0,9%	6,4%		21,7%	0,6%	22,2%
syys-lokakuu	3,2%	0,2%	7,7%		21,9%	1,0%	22,5%
	20:5(n-3)				22:6(n-3)		
	2013	keskihajonta	1976		2013	keskihajonta	1976
kesäkuu, alku	9,0%	0,6%	7,8%		21,1%	6,2%	13,6%
kesäkuu, puoliväli	7,0%	1,6%	7,0%		17,5%	4,8%	12,5%
syys-lokakuu	7,9%	0,9%	7,4%		14,9%	3,1%	8,6%

Kuvio 7 sekä kuvion kuvaajien lukuarvot.



Kuvio 7.

	EPA	DHA
1976		
Plankton	16,8%	14,8%
Silakka	8,6%	13,7%
2013		
Plankton	12,9%	12,7%
Silakka	7,9%	17,8%